Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Tratamento de sementes com bioestimulante: vigor e isoenzimas de plântula de arroz de sequeiro sob restrição hídrica

Seed treatment with bio stimulants: vigor and seedling isozymes of upland rice under water restriction

Danielli Olsen[1], Tiago Pedó[1], Felipe Koch[1], Emanuela Garbin Martinazzo[2], Tiago Zanatta Aumonde[3], Francisco Amaral Villela[3]

[1]Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Caixa postal 354 – cep: 96010-900 Pelotas - RS. e-mail: danielliolsen@yahoo.com.br
[2]Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Campus Carreiros - Av. Itália, km 8, cep: 96203-900, Rio Grande – RS.
[3] Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Recebido em: 09/08/2014 Aceito em:14/03/2017

Resumo: A semeadura em condições ambientais desfavoráveis tem se intensificado nos últimos anos, enquanto, a utilização do tratamento de sementes com bioestimulantes tem aumentado de forma marcante. Este trabalho objetivou avaliar o desempenho fisiológico de sementes e a expressão isoenzimática de sementes de arroz de sequeiro tratadas com bioestimulante e submetidas à restrição hídrica. Os tratamentos consistiram em sementes sem tratamento (dose zero) e tratadas com bioestimulante (dose recomendada). O déficit hídrico foi estabelecido pelos potenciais hídricos 0,0; -0,20; -0,40; -0,60; -0,80 e -1,0 MPa. Foram avaliados a germinação e o índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de parte área e de raiz, a expressão das isoenzimas peroxidase, malato-desidrogenase, glutamato oxalacetato transaminase e esterase. A germinação e o índice de velocidade de germinação, o comprimento e a massa seca de parte aérea e de raiz foram reduzidos ao diminuir o potencial hídrico. Potenciais hídricos inferiores a -0,4 MPa reduzem drasticamente a germinação, o vigor e a expressão isoenzimática de plântulas de arroz de sequeiro. O tratamento de sementes com bioestimulante favorece o desempenho de sementes e plântulas de arroz de sequeiro sob restrição hídrica.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.*,* crescimento inicial, enzimas, estresse hídrico.

Abstract: Sowing in unfavorable environmental conditions have intensified in recent years, while the use of seed treatment with bio-stimulants has increased markedly. This study evaluated the physiologic performance and isozyme expression of upland rice seeds treated with plant growth regulator and submitted to water restriction. Treatments consisted of untreated seeds (zero dose) and treated with plant growth regulator (recommended dose). Water deficit was established by water potentials 0.0; -0.20; -0.40; -0.60; -0.80 and -1.0 MPa. Germination, index germination velocity, length and dry mass of root area and the expression of peroxidase isozymes, malate dehydrogenase, glutamate oxaloacetate transaminase and esterase were evaluated. Germination and index germination velocity, length and dry weight of shoot and root were reduced by lowering the water potential. Water potentials below -0.4 MPa dramatically reduce germination, vigor and seedling isozyme expression upland rice. Seed treatment with bio-stimulant enhances the performance of seeds and seedlings of upland rice under water restriction.

Keywords: *Oryza sativa* L.*,* initial growth, enzymes, water estress

Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) está entre os cultivos mais produzidos no mundo, destacando-se pela expressiva participação na alimentação humana e por constituir-se em alimento básico para a maioria da população mundial. No Brasil, o arroz ocupa a terceira posição em termos de

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

produção, sendo produzidos na safra 2013/14, cerca de 12 milhões de toneladas.

O cultivo de arroz de sequeiro é realizado com emprego de baixos níveis tecnológicos, fato que associado às frequentes adversidades climáticas, resulta na redução da produção de grãos (Conab, 2014). É especialmente cultivado na região do Cerrado brasileiro, destacando-se pela rusticidade e adaptação a condições edafoclimáticas adversas (Oliveira et al., 2001). No entanto, cabe salientar, que baixa produtividade tem sido observada em algumas áreas do referido agroecossistema, fato que decorre em parte da restrição hídrica verificada durante os estádios iniciais de desenvolvimento.

A restrição hídrica promove alterações em processos fisiológicos do vegetal que influenciam diretamente no crescimento e desenvolvimento (Nogueira et al., 2001). Afeta a absorção de nutrientes (Santos et al., 2008) e dependendo do estádio fenológico das plantas, reduz a produtividade da cultura (Crusciol et al., 2012), ativa complexos enzimáticos de defesa e na síntese de aminoácidos precursores de poliaminas (Forde e Lea, 2007).

A utilização de bioestimulantes visa auxiliar as plantas na superação de condições de estresse, estimulando o crescimento das raízes, possibilitando maior absorção de água e nutrientes pela planta e conferindo maior tolerância ao déficit hídrico (Carvalho et al., 2013). Estes produtos modificam a expressão de proteínas e a interação com mecanismos de defesa da planta (Almeida et al., 2009) e, quando associado a micronutrientes, exercem importante papel na ativação de enzimas e no crescimento das plantas (Prado et al., 2007).

A avaliação da resposta do desempenho fisiológico de sementes e plântulas sob efeito da associação tratamento de sementes e restrição hídrica, constitui importante ferramenta para o estudo de respostas diferenciais de plantas. O emprego de substâncias capazes de realçar o desempenho germinativo de sementes e o crescimento de plântulas sob condições desfavoráveis é fundamental no estabelecimento inicial das plantas no campo (Abati et al., 2014).

Sendo assim, este trabalho objetivou avaliar o desempenho fisiológico e a expressão isoenzimática de sementes de arroz de sequeiro tratadas com bioestimulante e submetidas à restrição hídrica simulada.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Universidade Federal de Pelotas, situada na latitude 31º52' S, longitude 52º21' W e altitude 13 m.

Foram utilizadas sementes de arroz de sequeiro (*Oryza sativa* L) tratadas com bioestimulante (95% *Ecklonia máxima* sp. + 2% Mo + 3% Zn *p*/*v*) na dose recomendada de 4 mL Kg^{-1} de sementes, cuja qualidade foi inicialmente comparada à qualidade de sementes não tratadas a fim de eliminar interferência deste fator na resposta ao déficit hídrico (Tabela 1). Para tal as sementes foram distribuídas em sacos plásticos, de forma individual para cada tratamento. A calda foi distribuída no fundo de cada saco de polietileno, seguido de agitação e homogeneização. Posteriormente, as sementes foram transferidas para sacos de papel pardo, a temperatura ambiente de 25ºC por 24 horas, visando a secagem da calda.

Após o tratamento as sementes foram submetidas a seis potenciais hídricos (0,0; -0,2; -0,4; -0,6; -0,8 e -1,0 MPa) determinados a partir de testes prévios com sementes não tratadas e estabelecidos por meio de soluções compostas por água destilada e diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG-6000), empregando-se a relação massa e volume (*m*/*v*).

Para avaliação da influência da associação tratamento com bioestimulante e déficit hídrico, foram realizados os seguintes testes:

Teste de germinação: conduzido em quatro amostras de quatro subamostras de 50 sementes. As sementes foram dispostas em rolos formados por três folhas de papel de germinação, umedecidas com as soluções de diferentes potenciais hídricos em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa seca do papel. Os rolos foram transferidos para câmara de germinação tipo BOD a 25 ºC e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram efetuadas aos quatorze dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Primeira contagem da germinação: realizada conjuntamente ao teste de germinação, com avaliação aos cinco dias após a semeadura. Os

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Índice de velocidade de germinação: obtido a partir de contagens diárias do número de sementes germinadas, utilizando o parâmetro de avaliação como sendo a protrusão radicular mínima de 3 a 4 mm. As contagens foram realizadas até a obtenção do número constante de sementes germinadas e o índice (Peske et al., 2012).

Comprimento de parte aérea e de raiz de plântulas: avaliados por meio de quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação. O comprimento de parte aérea foi obtido pela medida da distância entre a inserção da porção basal da radícula ao ápice da parte aérea, enquanto o comprimento de raiz foi mensurado pela medida da distância entre a parte apical e basal da raiz. Os resultados foram expressos em milímetros por órgão.

Massa seca de parte aérea e de raiz das plântulas: obtida pela aferição da massa de quatro subamostras de 10 plântulas, ao final do teste de germinação. As partes aéreas e raízes foram acondicionadas em envelopes de papel pardo e submetidas à secagem em estufa de ventilação forçada sob temperatura de 70°C, até massa constante. Os resultados foram expressos em miligramas por órgão.

Expressão isoenzimática: o material vegetal utilizado para a determinação das isoenzimas foi obtido pela coleta de dez plântulas do teste de germinação, sete dias após a semeadura. A expressão das isoenzimas peroxidase, malato-desidrogenase, glutamato oxalacetato transaminase e esterase foi determinada pelo sistema de eletroforese vertical em gel de poliacrilamida. Para isso, as plântulas foram maceradas separadamente em gral de porcelana, em banho de gelo. Após, 200 mg do macerado de cada amostra foi transferido para tubos de microcentrífuga e acrescidos de solução extratora (Borato de Lítio 0,2 M a pH 8,3 + Tris Citrato + 0,2 M à pH 8,3) + 0,15% de 2-mercaptoetanol) na proporção 1:2 (*m*/*v*) conforme metotologia empregada por Malone et al. (2007). A eletroforese foi realizada em géis de poliacrilamida 7%, aplicando-se 20 µL de cada amostra. Os sistemas de coloração por Malone et al. (2007).

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com quatro repetições. Os dados relacionados ao desempenho fisiológico de sementes e ao crescimento inicial de plântulas foram submetidos à análise de variância e se significativo a 5%, foram ajustados por polinômios ortogonais. A interpretação dos resultados de expressão isoenzimática foi por análise visual dos géis, presença ou ausência e intensidade de expressão das bandas.

Resultados e Discussão

Ao avaliar a qualidade inicial das sementes, observa-se que o tratamento com bioestimulante não afetou significativamente a germinação, o índice de velocidade de germinação, a matéria seca e o comprimento de órgãos (Tabela 1). Abati et al. (2014) ao avaliarem a qualidade fisiológica sementes de trigo e Moterle et al. (2011) ao avaliarem sementes de soja tratadas com bioestimulante obtiveram resultados similares para o desempenho fisiológico de sementes e plântulas.

Tabela 1. Comparativo entre germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (C_{pa}) e de raiz (C_r), matéria seca de parte aérea (W_{pa}) e raiz (W_r) de plântulas de arroz de sequeiro sob efeito do tratamento com bioestimulante e não tratadas. Pelotas, UFPel, 2014

Tratamento Sementes	G (%)	IVG	Cpa (mm)	Cr (mm)	Wpa (mg)	Wr (mg)
Tratadas	96a*	39,68a	86,77a	125,28a	17,4a	7,7a
Não tratadas	95a	39,33a	89,84a	127,99a	16,6a	6,9a
CV (%)	0,57	1,66	10,92	6,68	5,98	14,83

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P≤5%).

Por outro lado, a germinação foi alterada pela restrição hídrica apresentando tendência quadrática, com elevado coeficiente de determinação ($R^2 \geq 0,93$). Houve redução do processo germinativo ao diminuir o potencial hídrico da solução a partir de -0,4 MPa (Figura 1a). A germinação de sementes híbridas de milho

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

sob déficit hídrico é reduzida ao diminuir o potencial hídrico (Kappes et al., 2010). Carvalho et al. (2013) ao avaliarem a influência de bioestimulantes na germinação de sementes de feijão sob efeito da restrição hídrica, observaram redução na germinação ao reduzir o potencial hídrico.

1

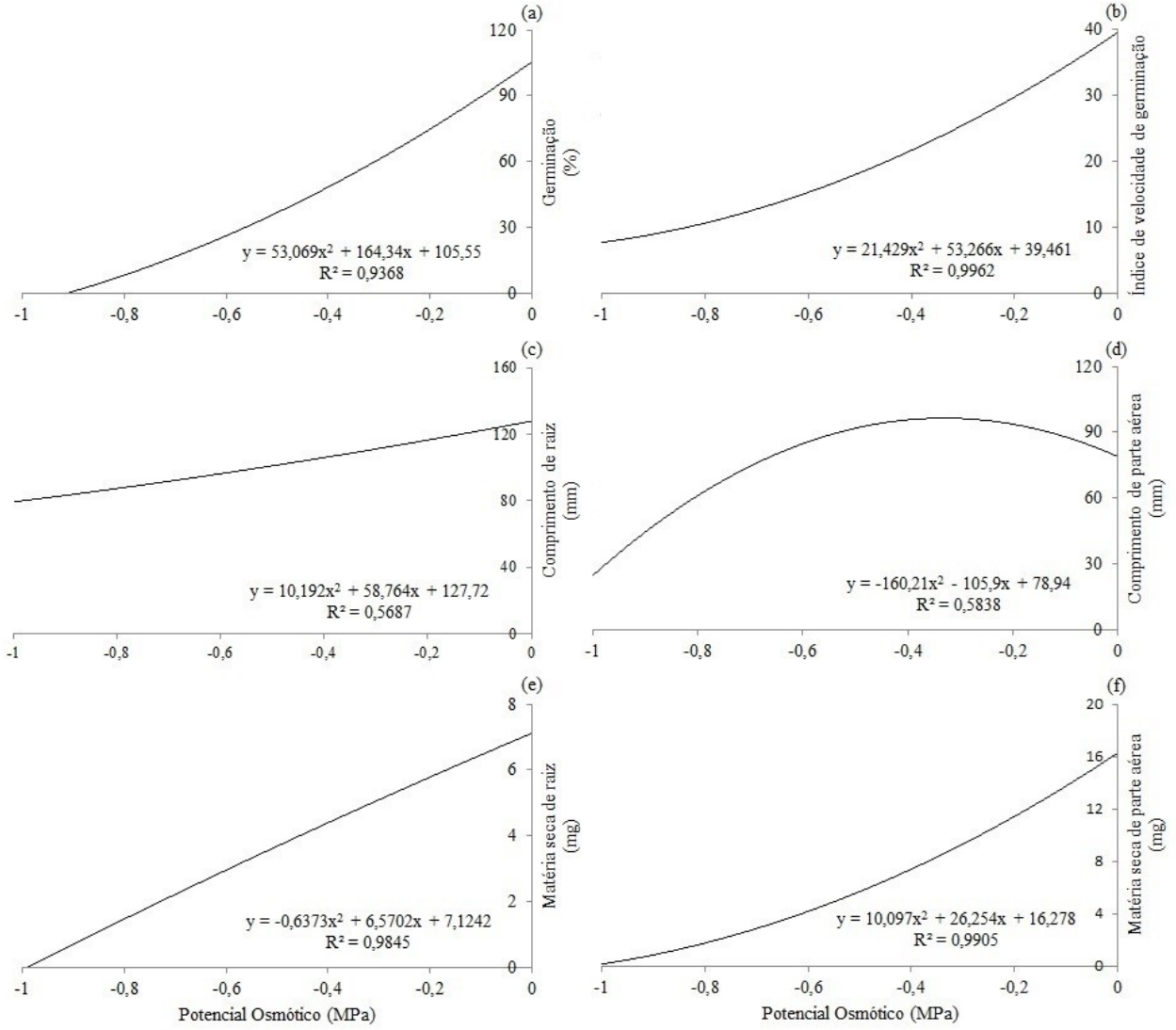

Figura 1. Germinação (a) e índice de velocidade de germinação de sementes (b), comprimento de parte aérea (c) e de raiz (d), matéria seca de parte aérea (e) e de raiz (f) de plântulas de arroz de sequeiro sob efeito da restrição hídrica simulada por PEG-6000.

O índice de velocidade de germinação se ajustou à tendência quadrática e foi obtido com elevado coeficiente de determinação (R^2= 0,99). Houve redução do índice de velocidade de germinação ao tornar o potencial hídrico mais negativo, sendo observados resultados drásticos a partir de -0,4 MPa (Figura 1b). Tal fato evidencia influência negativa do potencial hídrico mesmo sendo as sementes tratadas com bioestimulante. O vigor consiste no conjunto de processos fisiológicos mediados por sinalizadores químicos e que envolvem a síntese, hidrólise, translocação e alocação de assimilados para o embrião (Peske et al., 2012). Resultados similares foram obtidos por

Abati et al. (2014) ao estudarem a qualidade fisiológica de trigo tratado com bioestimulante sob efeito da restrição hídrica.

Houve tendência ao acréscimo no comprimento de parte aérea de plântulas de -0,4 MPa na ordem de 11,71%, com posterior decréscimo até os menores potenciais hídricos na ordem de 94,41% em relação ao maior potencial (Figura 1c). Entretanto, o comprimento de raiz apresentou tendência decrescente ao reduzir o potencial hídrico (Figura 1d). É possível inferir que o tratamento de sementes com bioativador na dose recomendada, proporcionou maior capacidade de alongamento ou crescimento de parte aérea. Tal fato pode estar relacionado ao efeito do bioestimulante no balanço hormonal (Carvalho et al., 2013), induzindo a melhor resposta do vegetal no inicio do déficit hídrico.

O déficit hídrico altera de forma distinta parâmetros fisiológicos de crescimento. A redução do crescimento pode ser decorrente da diminuição da expansão celular ou redução da eficiência de processos fisiológicos e bioquímicos (Abati et al., 2014). Girotto et al. (2012) e Abati et al. (2014) observaram redução do comprimento de parte aérea e de raiz de plântulas de trigo originadas de sementes não tratadas, com a diminuição do potencial hídrico a partir de -0,4 Mpa.

A matéria seca de parte aérea e de raiz apresentou tendência à redução nos menores potenciais hídricos (Figura 1e; 1f). Resultados mais severos impostos pelo potencial hídrico sobre estes atributos de crescimento foram observados a partir de -0,4 MPa. A redução da massa seca de plântulas é explicada pelo menor aproveitamento dos assimilados armazenados e por alterações no sistema enzimático das sementes e plântulas que conduzem a perda de sua eficiência (Peske et al., 2012). Balardin et al. (2011) ao estudarem o efeito do tratamento de sementes de soja submetida ao estresse hídrico, observaram que houve redução na matéria seca de parte aérea e de raiz.

A expressão e a intensidade das bandas das isoenzimas foram alteradas pela restrição hídrica, conforme a estrutura vegetal (Figura 2). A isoenzima glutamato oxalacetato transaminase apresentou bandas mais intensas sob os menores potenciais hídricos, com apenas um alelo (*GOT1*) na parte aérea (Figura 2a). A glutamato oxalacetato transaminase atua na oxidação de aminoácidos com vistas ao fornecimento de energia para o ciclo de Krebs ou para a redução do α-cetoglutarato, voltada à biossíntese de novos aminoácidos destinados ao crescimento do embrião (Malone et al., 2007), podendo afetar a retomada do crescimento do embrião e a expressão do vigor da semente.

Tanto em parte aérea quanto em raiz, a expressão da esterase foi alterada em plântulas sob potenciais hídricos de -0,6; -0,8 e -1,0 MPa (Figura 2b). A partir do potencial hídrico de -0,6 MPa houve menor intensidade e expressão do número de bandas (*EST1*; *EST2*). Todavia, em raízes, a intensidade de expressão da banda (*EST4*) foi mais intensa ao diminuir o potencial hídrico até -1,0 MPa. A esterase está envolvida em reações de hidrólise de ésteres e estreitamente relacionada ao metabolismo de lipídios (Santos et al., 2005). A redução da expressão do vigor pode estar relacionada à redução da seletividade do sistema de membranas celulares (Peske et al., 2012) ocasionado pelo acúmulo de radicais livres, refletindo na nos valores de massa seca observados (Figura 1f; 1e).

A isoenzima malato-desidrogenase, em parte aérea, apresentou baixa intensidade de bandas a partir do potencial hídrico -0,6 MPa, sem a ocorrência de alteração quanto ao número de bandas (*MDH1*) (Figura 2c). Não foi observada expressão da malato-desidrogenase em raízes, independentemente do tratamento utilizado. Por desempenhar função importante na síntese de aminoácidos e na gliconeogênese, na manutenção dos potenciais redox e no intercâmbio de metabólitos entre o citosol e organelas, e na respiração celular (Santos et al., 2005), esta enzima pode ter a maior expressão relacionada ao desempenho das plântulas.

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

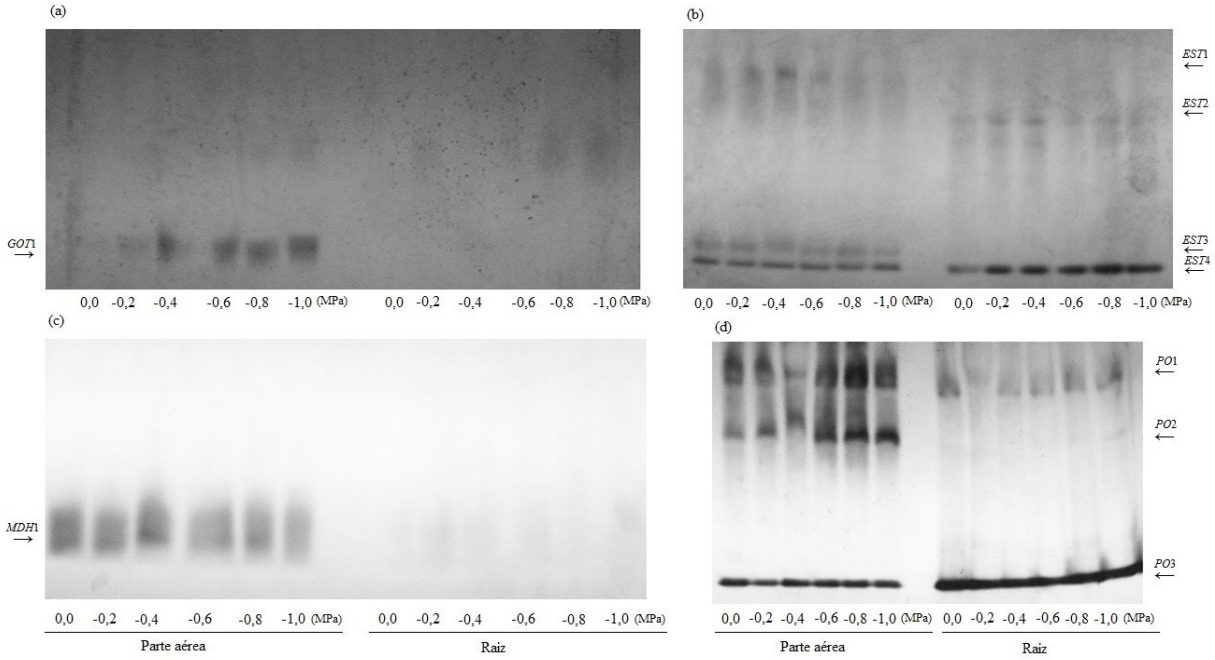

Figura 2. Expressão isoenzimática em parte aérea e raiz de plântulas de arroz de sequeiro sob efeito da restrição hídrica simulada por PEG-6000, sendo: a = glutamato oxalacetato transaminase; b = esterase; c = malato desidrogenase; d =; peroxidase.

A isoenzima peroxidase alterou a expressão do número e a intensidade das bandas conforme o potencial hídrico da solução (Figura 2d). O aumento do potencial hídrico a partir de -0,6 MPa a -1,0 MPa resultou em maior intensidade na expressão da peroxidase (*PO1*; *PO2*; *PO3*) na parte aérea das plântulas, entretanto, em raízes não houve diferenças no número e na intensidade das bandas. Rossi e Lima (2001) relatam que a peroxidase tem sua atividade relacionada à redução do nível de peróxido de hidrogênio, que pode alterar a permeabilidade de membranas celulares e afetar o desempenho de plântulas (Figura 1).

Embora o tratamento de sementes com bioestimulante não tenha alterado a qualidade fisiológica inicial das sementes, não foi capaz de reduzir o efeito danoso do potencial hídrico no desempenho de sementes e plântulas de arroz de sequeiro. Tanto atributos relacionados ao processo germinativo quanto aqueles referentes ao crescimento inicial das plântulas foram reduzidos, com exceção do comprimento de parte aérea que foi incrementado até -0,4 MPa. Assim, a utilização de bioestimulantes, segundo Carvalho et al. (2013) pode ser alternativa na superação de estresses abióticos. Contudo, a restrição hídrica induzida alterou a expressão isoenzimática, sendo resultados mais evidentes observados na raiz, para glutamato oxalacetato transaminase e a malato desidrogenase e mais marcantes para a esterase determinada em raízes.

Conclusões

O tratamento de sementes com o bioestimulante, não afeta a qualidade fisiológica de sementes de arroz de sequeiro, sendo a redução de atributos da germinação e do crescimento inicial, resultado da diminuição do potencial hídrico.

O comprimento de parte aérea foi incrementado em plântulas originadas de sementes tratadas com bioestimulante, até o potencial hídrico de -0,4MPa.

A expressão isoenzimática em plântulas de arroz de sequeiro demonstrou maior expressão na parte aérea e menor nas raízes, aumentando a intensidade das bandas, com a redução dos potencias hídricos.

Referências

ABATI, J.; BRZEZINSKI, C.R.; ZUCARELI, C.; HENNING, F.A.; ALVES, V.F.N.; GARCIA,

V.V. Qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com biorregulador em condições de restrição hídrica. **Informativo Abrates**, v.24, n.1, p.32-36, 2014.

ALMEIDA, A.S.; TILLMANN, M.Â.A.; VILLELA, F.A.; PINHO, M.S. Bioativador no desempenho fisiológico de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.087-095, 2009.

BALARDIN, R.S.; SILVA, F.D.L.; DEBONA, D.; CORTE, G.D.; FAVERA, D.D.; TORMEN, N.R. Tratamento de sementes com fungicidas e inseticidas como redutores dos efeitos do estresse hídrico em plantas de soja. **Ciência Rural**, v.41, n.7, p.1120-1126, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para Análise de Sementes. Brasília: SNAD/CLAV, 2009. 398p.

CARVALHO, T.C.; SILVA, S.S.; SILVA, R.C.; PANOBIANCO, M.; MÓGOR, Á.F. Influência de bioestimulantes na germinação e desenvolvimento de plântulas de *Phaseolus vulgaris* sob restrição hídrica. **Revista de Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.199-205, 2013.

CONAB. Acompanhamento de safra brasileira de grãos, safra 2013/14, v.1, n.8, 2014. Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab, 2014. < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_05_08_10_11_00_boletim_graos_maio_2014.pdf>. Acesso: 12/05/2014.

CRUSCIOL, C.A.C.; TOLEDO, M.Z.; ARF, O.; CAVARIANI, C. Water supplied by sprinkler irrigation system for upland rice seed production. **Bioscience Journal**, v.28, n.1, p.34-42, 2012.

FORDE, B.G.; LEA, P.J. Glutamate in plants: metabolism, regulation and signaling. **Journal of Experimental Botany**, v.58, n.9, p.2339-2358, 2007.

GIROTTO, L.; ALVES, J.D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A.C.S.; TOMAZONI, A.P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.192-199, 2012.

KAPPES, C.; ANDRADE, J.A.C.; HAGA, K.I.; FERREIRA, J.P.; ARF, M.V. Germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de milho sob condições de déficit hídrico. **Scientia Agraria**, v.11, n.2, p.125-133, 2010.

MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; MENEGHELLO, G.E.; CASTRO, M.A.S.; PESKE, S.T. Expressão diferencial de isoenzimas durante o processo de germinação de sementes de arroz em grandes profundidades de semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.1, p.61-67, 2007.

MOTERLE, L.M.; SANTOS, R.F.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, A.L.; BONATO, C.M.; CONRADO, T. Efeito de biorregulador na germinação e no vigor de sementes de soja. **Revista Ceres**, v.58, n.5, p.651-660, 2011.

NOGUEIRA, R.J.M.C.; MORAES, J.A.P.V.; BURITY, H.A. Alterações na resistência à difusão de vapor das folhas e relações hídricas em aceroleira submetidas a déficit de água. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, n.1, p.75-87, 2001.

OLIVEIRA, W.F.; PIMENTEL, D.M.; ALBERNAZ, R.S.; MACHADO, L.A.; BATISTA, R.G.; RAMALHO, V. Efeito de produtos fitossanitários no tratamento de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) visando ao controle de *Pyricularia grisea*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.31, n.1, p.43-46, 2001.

PESKE, S.T.; VILLELA, F.A; MENEGHELLO, G.E. (Eds.). 3nd ed. Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos. Pelotas, UFPel, 2012. 573p.

PRADO, R.M.; NATALE, W.; MOURO, M.C. Fontes de zinco aplicado via semente na nutrição e crescimento inicial do milho cv. Fort. **Bioscience Journal**, v.23, n.2, p.16-24, 2007.

ROSSI, C.; LIMA, G.P.P. Cádmio e a atividade de peroxidase durante a germinação de sementes de feijoeiro. **Scientia Agricola**, n.58, v.1, p.197-199, 2001.

SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes,** v.27, n.1, p.104-114, 2005.

SANTOS, T.E.B.; NAKAYAMA, F.T.; ARF, O.; CASSIOLATO, A.M.R. Alterações microbiológicas, de fertilidade e de produtividade do arroz de terras altas em diferentes manejos de solo e água. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.30, n.2, p.203-209, 200